

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-218769

(43)Date of publication of application : 18.08.1998

(51)Int.Cl.

A61K 31/35
// A61K 35/78
C07D311/62

(21)Application number : 09-036906

(71)Applicant : KIKKOMAN CORP

(22)Date of filing : 06.02.1997

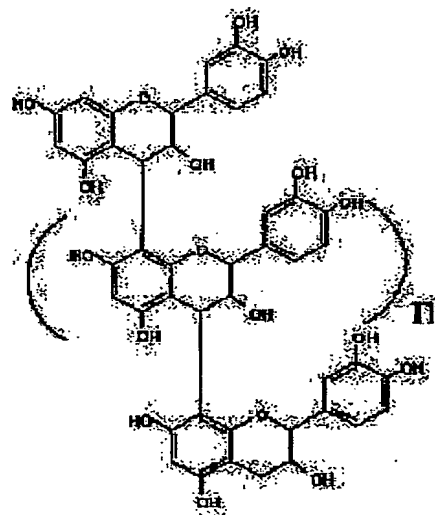
(72)Inventor : SAITO MINORU
ISHIKAWA HIROHARU
HOSOYAMA HIROSHI
ARIGA TOSHIAKI
KATAOKA SHIGEHIO

(54) ANTIULCER AGENT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a low toxic antiulcer agent capable of remarkably improving ulcer without accompanying side effect by formulating procyanidin B type.

SOLUTION: This medicine contains a small polymerization product of procyanidin B type of the formula [(n) is 2-4] as an active ingredient. Further, adequate medicinal supports are formulated to manufacture pharmaceutically in a form of oral administration by the usual method. It is administrated at a dose of 10-5,000mg/day/adult, preferably 50-2,000mg/day/adult. The small polymerization product of procyanidin B type of the formula is obtained by extracting it with water or hot water from plant bodies abundantly containing the substance, e.g. inside skin of hinoki tree or pine tree, seeds of grapes and azuki beans, followed by separating and purifying by means of column chromatography and high-performance liquid chromatography. When obtained by extraction and separation from seeds of grapes, the extract is, as it is, usable as the preventive foods for ulcer.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

BEST AVAILABLE COPY

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

* NOTICES *

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. **** shows the word which can not be translated.

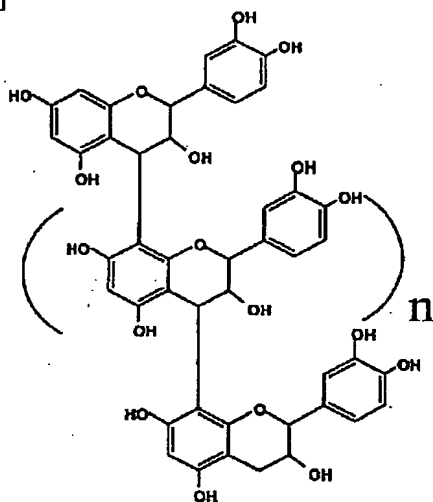
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] Degree type (1)

[Formula 1]



(1)

It is the antiulcer drug which contains the pro cyanidin B type shown by (the figure of 2-4 is shown by the inside n of a formula) as an active principle.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to the antiulcer drug which makes a pro cyanidin B type an active principle.

[0002]

[Description of the Prior Art] Pro cyanidins are the dimer which makes a configuration unit flavan-3-ol, and a flavan-3 and 4-diol, a trimer, a tetramer, and the high molecular compound of 10 more or more ****s, and have various kinds of stereoisomers. Especially a pro cyanidin B type little object is matter contained in fruits, cereals, legumes, etc. Furthermore, it is reported as one of the components in the tea leaves which are potatoes and luxury goods.

[0003] recent years -- pro -- cyanidin -- B -- a type -- little -- the body -- versatility -- a property -- examination -- carrying out -- having -- a book -- a compound -- being the same -- a flavanol -- a system -- a compound -- a monomer -- it is -- being strong -- the antioxidation -- capacity -- having -- (-- + --) -- a catechin -- a drainage system -- the antioxidation -- an experimental model -- setting -- more -- the antioxidation -- capacity -- being powerful -- things -- reporting -- having -- ****
(AGURIKARUCHURARU- and - biological chemistry, 52 volumes, 2717 pages, 1988) .

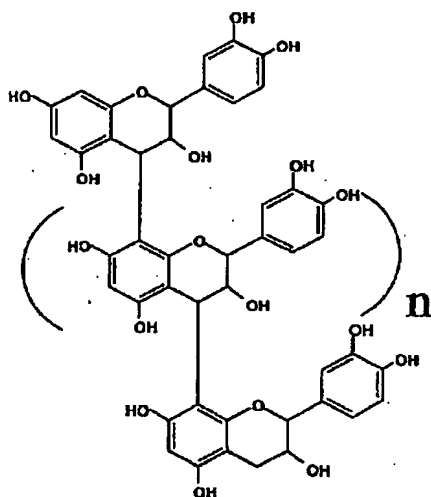
[0004] Moreover, it has reported that Philip DOSUTERU and others has an antiulcer action, cytoprotection, a blood vessel protective action, an anti-lipid-peroxidation operation, etc. about a pro anthocyanidin A type dimer in pro cyanidins (JP,62-77390,A). However, the present condition is hardly inquiring about that pharmacological activity about a pro cyanidin [which completely differs in structure] B type little [the matter of this report] object.

[0005]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] This invention makes a technical problem use as drugs of a pro cyanidin B type little object.

[0006]

[Means for Solving the Problem] this invention persons came to complete a header and this invention for antiulcer activity with this strong compound being shown, as a result of adding examination wholeheartedly about those pharmacological actions about the pro cyanidin B type little object shown by said formula (1). namely, this invention -- a degree type (1) -- [Formula 2]



(1)

(type Naka n is antiulcer drug which contains the pro cyanidin B type little object shown by 2 - 4) as an active principle. This invention is explained to a detail below.

[0007] When n shows two to four or more figures and n is 2, 3, and 4 in said formula (1), the tetramer of a pro cyanidin B type little object, a pentamer, and a hexamer are expressed, respectively. Said pro cyanidin B type little object extracts the cypress which may obtain by what kind of approach, for example, contains many these matter as an extraction method from a plant body, a New-Year-holidays hide, a grape seed, or Shozu with water or hot water, and from an extract, by technique, such as a column chromatography and high performance chromatography, it can dissociate and it can refine it.

[0008] An example which refined the pro cyanidin B type little object from the grape seed is shown below. Hot water (85 degrees C) extracted 10kg of fresh white grape seeds for 2 hours. Subsequently, the impurity was removed using the filter and it condensed under reduced pressure. 5l. of water was added to residue, and it was made to stick to the column (phi 1.3 x 50cm) filled up with Sepabeads SP-207 resin. Subsequently, after washing by 15l. of water, and 15l. of 15% ethanol, the fraction which includes a pro cyanidin B type little object by 15l. of ethanol 30% was eluted. The eluate was condensed by the spray-drying method and 204g of powder which contains a pro cyanidin B type little object 51.5% was obtained.

[0009] next, this powder is dissolved in a small amount of ethanol, and it sticks to the column filled up with Sephadex LH-20 -- making -- ethanol -- the occasion -- it was eluted using the methanol and the fraction containing each pro cyanidin little object was obtained. It is a pro cyanidin B type by recrystallizing in an ethanol-hexane, after condensing each fraction under reduced pressure. Dimer: 10.5mg, trimer: 14.7mg, tetramer: 18.9mg, pentamer: 10.1mg, and hexamer: 14.7mg were obtained. These instrumental-analysis data are shown in Table 1.

[0010]

表1

	2量体	3量体
m. p. (°C)	227~232	218~225
mass [M+H] ⁺	579	868
元素分析值	C ₃₀ H ₂₈ O ₁₂ · H ₂ O	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈ · 1/2H ₂ O
理論値	C:H:O=60.40:4.73:34.87	C:H:O=61.71:4.49:33.80
分析値	C:H:O=60.80:5.03:35.10	C:H:O=61.35:4.11:34.70
	4量体	5量体
m. p. (°C)	225~238	198~215
mass [M+H] ⁺	1155	1443
元素分析值	C ₆₀ H ₆₀ O ₂₄ · 2H ₂ O	C ₇₅ H ₆₂ O ₃₀ · 1/3H ₂ O
理論値	C:H:O=61.71:4.49:33.80	C:H:O=62.16:4.36:33.49
分析値	H:O=61.30:4.51:33.92	C:H:O=62.50:4.32:33.15
	6量体	
m. p. (°C)	225~233	
mass [M+H] ⁺	1732	
元素分析值	C ₉₀ H ₇₄ O ₃₆ · 1/4H ₂ O	
理論値	C:H:O=62.27:4.33:33.41	
分析値	C:H:O=62.59:4.10:33.01	

[0011] moreover -- as a synthesis method -- Swain's and others approach (chemistry - and - industry --) the approach (a journal OBU THE institute OBU BURUWA ring --) of 1144 pages, 1954, Gramshaw and others the approach (a journal OBU THE institute OBU BURUWA ring --) of 74 volumes, 20 pages, 1968, and Eastmond Fonknechten's and others approach (a journal OBU THE institute OBU BURUWA ring, 89 volumes, 424 pages, 1983) is learned in 80 volumes, 188 pages, and 1974. for example, by change the approach of Eastmond and make it react at the temperature under existence of a sodium borohydride and around 40 degrees for several hours by use the (+) catechin in ethanol, and (**) taxi HORIN as a raw material, this invention persons be able to get the mixture of a pro cyanidin B type little object, and, subsequently be able to refine the target pro cyanidin B type little object with means, such as a solvent extraction method, a column chromatography, and a high speed liquid chromatography. An example which compounded the pro cyanidin B type little object is shown below.

[0012] The approach of Eastmond was changed and compounded. That is, 200ml of ethanol containing 5g of sodium borohydrides was added, dissolving and agitating (+) catechin 5g and (**) taxi HORIN 5g to ethanol 100ml. The reaction was performed at 40 degrees C for 4 hours, 800ml and 300ml of 5% acetic acids were added for distilled water after reaction termination, and pH was adjusted to 5.1. After adding salt in this solution and being saturated in it, 700ml ethyl acetate extracted 3 times. After 700ml of saturation brine washed the extract, reduced pressure hardening by drying was carried out. After dissolving residue in a small amount of ethanol, it was made to stick to the column filled up with Sephadex LH-20.

[0013] Subsequently, it was eluted in order of ethanol and a methanol, and the fraction containing each

pro cyanidin little object was obtained. It is a pro cyanidin B type by recrystallizing in an ethanol-hexane, after condensing each fraction under reduced pressure. Dimer: 504mg, trimer:850mg, tetramer:400mg, pentamer:479mg, and hexamer:236mg were obtained. Instrumental-analysis data are shown in Table 2.

[0014]

表2

	2量体	3量体
m. p. (°C)	229~232	217~225
mass [M+H] ⁺	579	868
元素分析値	C ₃₀ H ₂₈ O ₁₂ · 3/2H ₂ O	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈ · 1/2H ₂ O
理論値	C:H:O=59.50:4.83:35.67	C:H:O=58.70:4.82:36.49
分析値	C:H:O=59.05:4.84:35.90	C:H:O=58.54:5.11:36.90
	4量体	5量体
m. p. (°C)	225~236	196~215
mass [M+H] ⁺	1155	1443
元素分析値	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄ · 2H ₂ O	C ₇₅ H ₅₂ O ₃₀ · 1/3H ₂ O
理論値	C:H:O=61.62:4.45:33.93	C:H:O=62.03:4.37:33.60
分析値	C:H:O=62.00:4.40:33.60	C:H:O=62.00:4.23:33.70
	6量体	
m. p. (°C)	226~235	
mass [M+H] ⁺	1732	
元素分析値	C ₉₀ H ₇₄ O ₃₆ · 3H ₂ O	
理論値	C:H:O=60.54:4.52:34.94	
分析値	C:H:O=60.20:4.80:35.10	

[0015] The antiulcer drug of this invention can be prescribed for the patient in taking orally, further, it can mix with suitable physic support and the compound of a formula 1 can also be used for it. As physic support, they are wetting agents, such as disintegrator, such as lubricant, such as excipients, such as binders, such as syrup, gum arabic, gelatin, sorbitol, and a polyvinyl pyrrolidone, a lactose, cane sugar, white soft sugar, corn starch, calcium phosphate, sorbitol, and a glycine, magnesium stearate, talc, a polyethylene glycol, and a silica, and potatostarch, and sodium lauryl sulfate, etc.

[0016] As dosage forms, you may be a tablet, a pill, powder, a capsule, and a solid preparation like a granule, and may be liquor, suspension and an emulsion, syrups, elixirs, and the liquids and solutions like lemonades. The pharmaceutical preparation suitable for these administration is manufactured by the conventional method. Although the dose of the antiulcer drug of this invention changes with the symptom which should be treated, age, weights, etc., although 10-5000mg of adult 1 Japanese hits is suitable, it is usually about 50-2000mg preferably, for example. Moreover, when extraction separation of this antiulcer drug is carried out and it obtains for example, from a grape seed, it is available as ulcer prevention food as it is. Hereafter, although an example and the example of a trial explain this invention still more concretely, the range of this invention is not limited to these examples etc.

[0017]

[Example]

シロップ剤 (200mgプロシアニジンBタイプ 4量体/5mlシロップ)

プロシアニジンBタイプ4量体	12. 5g
滅菌精製水	200ml
チェリーシロップ	1000ml

Example 1

It adds dissolving a pro cyanidin B type tetramer in water, and agitating syrup quietly in this solution.
シロップ剤 (200mgプロシアニジンBタイプ5量体/5mlシロップ)

プロシアニジンBタイプ5量体	12. 5g
滅菌精製水	200ml
チェリーシロップ	1000ml

[0018] Example 2

It adds dissolving a pro cyanidin B type pentamer in water, and agitating syrup quietly in this solution.
散剤 (プロシアニジンBタイプ 4量体散剤)

プロシアニジンBタイプ4量体	200g
乳糖	800g
結晶セルロース	200g

[0019] Example 3

After mixing a lactose and crystalline cellulose with a pro cyanidin B type tetramer and kneading with water, it considers as powder as the shape of powder or a fine grain.
散剤 (プロシアニジンBタイプ6量体散剤)

プロシアニジンBタイプ6量体	200g
乳糖	800g
結晶セルロース	200g

[0020] Example 4

After mixing a lactose and crystalline cellulose with a pro cyanidin B type hexamer and kneading with water, it considers as powder as the shape of powder or a fine grain. The effectiveness of the antiulcer drug by this invention was checked by the following trials.

[0021] <Antiulcer test> use animal: A Wistar system male rat with a weight of 170-190g (5 weeks old)
The drug used: 60% ethanol solution which contains a 150mM hydrochloric acid as an inducer with which a gastric ulcer is caused was used. Moreover, the pro cyanidin B type little object dissolved so that it might become predetermined concentration using the physiological saline for injection.
Furthermore, since it did not dissolve in water, the hydrochloric-acid cetraxate clinically used with the comparative drug now used the mortar and the pestle as **** impalpable powder, and suspended and used them for the physiological saline.

[0022] The experiment approach and evaluation: The experiment approach added and carried out some modification to Yamahara's and others approach (a pharmaceutical-sciences magazine, 114 volumes, 401 pages, 1994). That is, after a 24-hour fast, and a hydrochloric acid / ethanol solution were administered orally at a rate of 1.4ml/animal, bottom bleeding death of the Nembutal anesthesia of the

rat was carried out 1 hour after, and the stomach was extracted. The phosphoric acid buffer solution (10ml) which contains formalin 10% was poured in into the extracted stomach, it cleared after 10 minutes, the die length of the damage generated in the gland stomach was measured, and it considered as the damage multiplier (lesion index), and evaluated per mm. The sample was administered orally a hydrochloric acid / 1 hour before ethanol administration. The comparative drug used hydrochloric-acid cetraxate.

[0023] Experimental group: The experimental group was set up as follows. In addition, six rats per group were used.

Group 1:	コントロール(生理食塩水)
Group 2:	塩酸セトラキセート100mg/kg
Group 3:	フラバノール単量体(+)カテキン) 200mg/kg
Group 4:	プロシアニジンBタイプ 2量体200mg/kg
Group 5:	プロシアニジンBタイプ 3量体200mg/kg
Group 6:	プロシアニジンBタイプ 4量体200mg/kg
Group 7:	プロシアニジンBタイプ 5量体200mg/kg
Group 8:	プロシアニジンBタイプ 6量体200mg/kg

A result is shown in Table 3.

[0024]

表 3

	潰瘍の大きさ (mm)	抑制率 (%)
Group 1	100.0 ± 16.7	
Group 2	19.6 ± 8.9	80.4
Group 3	98.7 ± 10.0	1.3
Group 4	102.0 ± 8.5	0.0
Group 5	88.0 ± 12.5	12.0
Group 6	21.0 ± 23.4**	79.0
Group 7	3.8 ± 2.8**	96.2
Group 8	0.2 ± 1.2**	99.8

* It is *:Group 1 and 1% of level of significance, and they are those with a significant difference.

[0025] In the polymer more than a pro cyanidin B type trimer, antiulcer activity was intentionally shown very strongly in the antiulcer activity example especially the tetramer, the pentamer, and the hexamer so that clearly from Table 3. Moreover, even if compared with the hydrochloric-acid cetraxate which is commercial drugs, the pro cyanidin B type little object in this invention showed very strong antiulcer activity. Moreover, the following performed the toxicity test of the antiulcer drug by this invention, and the toxic low thing was checked.

[0026] <single-dose-toxicity-study> use animal: -- ICR/crj male mouse (5 weeks old) experiment with a weights [29-32g] approach: -- single-dose toxicity study was performed according to the drugs toxicity test research report guideline.

[0027] Pro cyanidin B type 4, 5, and a hexamer are dissolved in a physiological saline, respectively, and it is 0.2ml per weight of 25g (0.125g [ml] /, 1 g/kg) to five mice. It administered orally at a rate and observed for 14 days. Consequently, these matter does not have a precedent death animal, and

microscopic abnormalities were not observed in the organization and the organ in the autopsy on the 14th at all, but it became clear extremely that toxicity is low.

[0028]

[Effect of the Invention] Without the antiulcer drug of this invention having very low toxicity, and accompanying it by the side effect, to an ulcer, prophylactic and therapy-effectiveness can be shown, an ulcer can be improved notably, and this invention is very useful on industry.

[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-218769

(43) 公開日 平成10年(1998) 8月18日

(51) IntCl⁶

A 6 1 K 31/35

// A 6 1 K 35/78

C 0 7 D 311/62

識別記号

A C L

F 1

A 6 1 K 31/35

35/78

C 0 7 D 311/62

A C L

審査請求 未請求 請求項の数 1 F D (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平9-36906

(22) 出願日 平成9年(1997) 2月6日

(71) 出願人 000004477

キッコーマン株式会社

千葉県野田市野田339番地

(72) 発明者 斉藤 寛

千葉県野田市野田339番地 キッコーマン

株式会社内

(72) 発明者 石川 廣晴

千葉県野田市野田339番地 キッコーマン

株式会社内

(72) 発明者 細山 浩

千葉県野田市野田339番地 キッコーマン

株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗潰瘍剤

(57) 【要約】

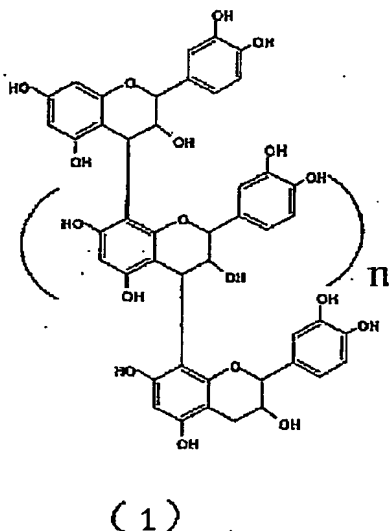
【課題】 新規な抗潰瘍剤の提供

【解決手段】 プロシアニジンBタイプを有効成分として含有する抗潰瘍剤。本発明の抗潰瘍剤は、毒性がきわめて低く、抗酸化性などの生理活性を有し、副作用を伴うことなく、潰瘍に対して、予防的、治療的效果を示し、潰瘍を顕著に改善することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 次式(1)

【化1】



(式中nは2～4の数字を示す)で示されるフロシアニジンBタイプを有効成分として含有する抗潰瘍剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、フロシアニジンBタイプを有効成分とする抗潰瘍剤に関する。

【0002】

【従来技術】フロシアニジンフラバン 3 オールとフラバン-3, 4-ジオールを構成単位とする2量体、3量体、4量体、さらに10量体以上の高分子化合物であり、各種の立体異性体がある。特にフロシアニジンBタイプ少量体は、果実類、穀類、豆類などに含まれている物質である。更にイモ類や嗜好品である茶葉中の成分の一つとして報告されている。

【0003】近年、フロシアニジンBタイプ少量体の種々の性質の検討が行われ、本化合物が同じフラバノール系化合物の単量体であり、強い抗酸化能力を持つ(+)-カテキンより水系の抗酸化実験モデルにおいてより抗酸化能力が強力であることが報告されている(アグリカルチュラル・アンド・バイオリジカル・ケミストリィ、52巻、2717頁、1988年)。

【0004】またフロシアニジン類のなかでプロアントシアニジンAタイプ2量体に関してはフィリップ・ドステルらが抗潰瘍作用、細胞保護作用、血管保護作用、抗脂質過酸化作用などを有することを報告している(特開昭62-77390号)。しかしながら、この報告の物質とは全く構造を異にするフロシアニジンBタイプ少量体に関しては、その薬理活性についてはほとんど研究されていないのが現状である。

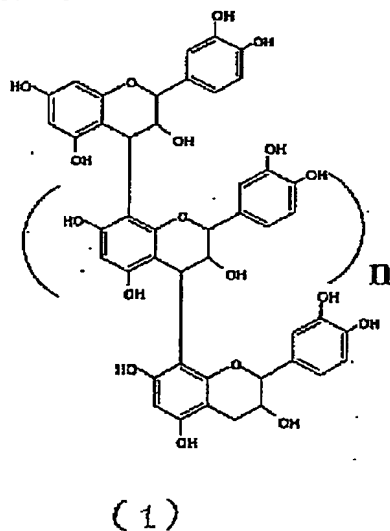
【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明はフロシアニジンBタイプ少量体の薬剤としての利用を課題とするものである。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、前記式(1)で示されるフロシアニジンBタイプ少量体に関し、それらの薬理作用について鋭意検討を加えた結果、この化合物が強い抗潰瘍活性を示すことを見出し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は次式(1)

【化2】



(式中nは2～4)で示されるフロシアニジンBタイプ少量体を有効成分として含有する抗潰瘍剤である。以下本発明を詳細に説明する。

【0007】前記式(1)においてnは2～4以上の数字を示し、nが2、3、4の場合それぞれ、フロシアニジンBタイプ少量体の4量体、5量体、6量体を表す。前記フロシアニジンBタイプ少量体はいかなる方法で得てもよく、例えば植物体からの抽出法としては、本物質を多く含有するヒノキ、松の内皮、ブドウ種子あるいは小豆等を、水あるいは熱水で抽出し、抽出物よりカラムクロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーなどの手法により分離、精製することができる。

【0008】以下にブドウ種子からフロシアニジンBタイプ少量体を精製した一例を示す。新鮮な白ブドウ種子10kgを、熱水(85℃)にて2時間抽出した。ついで、不純物をフィルターを用いて除去し、減圧下濃縮した。残渣に水5リットルを加え、Sepabeads SP-207樹脂を充填したカラム(φ11.3 × 50cm)に吸着させた。ついで、水15リットル、15%エタノール15リットルで洗浄した後、30%エタノール15リットルでフロシアニジンBタイプ少量体を含む画分を溶出した。溶出液をスプレードライ法により濃縮し、フロシアニジンBタイプ少量体を51.5%含有す

る粉末を204g得た。

【0009】つぎに、この粉末を少量のエタノールに溶解し、Sephadex LH-20を充填したカラムに吸着させ、エタノールついでメタノールを用いて溶出し、各プロシアニジン少量体を含有する画分を得た。それぞれの画分を減圧下濃縮した後、エタノール-ヘキサンにて再結晶す

表1

	2量体	3量体
m. p. (°C)	227~232	218~225
mass [M+H] ⁺	579	868
元素分析値	$C_{30}H_{28}O_{12} \cdot H_2O$	$C_{48}H_{38}O_{18} \cdot 1/2H_2O$
理論値	C:H:O=60.40:4.73:34.87	C:H:O=61.71:4.49:33.80
分析値	C:H:O=60.80:5.03:35.10	C:H:O=61.35:4.11:34.70
	4量体	5量体
m. p. (°C)	225~238	198~215
mass [M+H] ⁺	1155	1443
元素分析値	$C_{60}H_{58}O_{24} \cdot 2H_2O$	$C_{75}H_{62}O_{30} \cdot 1/3H_2O$
理論値	C:H:O=61.71:4.49:33.80	C:H:O=62.16:4.36:33.49
分析値	H:O=61.30:4.51:33.92	C:H:O=62.50:4.32:33.15
	6量体	
m. p. (°C)	225~233	
mass [M+H] ⁺	1732	
元素分析値	$C_{90}H_{74}O_{36} \cdot 1/4H_2O$	
理論値	C:H:O=62.27:4.33:33.41	
分析値	C:H:O=62.59:4.10:33.01	

＊ることにより、プロシアニジンBタイプ 2量体:10.5mg, 3量体:14.7mg, 4量体:18.9mg, 5量体:10.1mg, 6量体:14.7mgを得た。これらの機器分析データを表1に示す。

【0010】

【0011】また、合成法としては、Swainらの方法(ケミストリ・アンド・インダストリ、1144頁、1954年)、Gramshawらの方法(ジャーナル・オブ・ザ・インスティテュート・オブ・ブルワリング、74巻、20頁、1968年)、Eastmondの方法(ジャーナル・オブ・ザ・インスティテュート・オブ・ブルワリング、80巻、188頁、1974年)、Fonknechtenらの方法(ジャーナル・オブ・ザ・インスティテュート・オブ・ブルワリング、89巻、424頁、1983年)が知られている。たとえば、本発明者らはEastmondの方法を改変し、エタノール中(+)カテキンおよび(±)タキシホリンを原料として水素化ホウ素ナトリウムの存在下、40度前後の温度で数時間反応させることによりプロシアニジンBタイプ少量体の混合物を得、ついで溶媒抽出法、カラムクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーなどの手段により目的のプロシアニジンBタイプ少量体を精製することができた。以下にプロシアニジンBタイプ少量体を合成した一例を示す。

【0012】Eastmondの方法を改変して合成した。すなわち、(+)カテキン5g、(±)タキシホリン5gをエタノール100mlに溶解し攪拌しながら、水素化ホウ素ナトリウム5gを含むエタノールを200ml加えた。反応は40°Cで4時間行い、反応終了後、蒸留水を800ml、5%酢酸300mlを加え、pHを5.1に調整した。この溶液に食塩を添加し、飽和した後700mlの酢酸エチルにて3回抽出した。抽出液を飽和食塩水700mlで洗浄した後、減圧乾固した。残渣を少量のエタノールに溶解した後、Sephadex LH-20を充填したカラムに吸着させた。

【0013】ついで、エタノール、メタノールの順で溶出し、各プロシアニジン少量体を含有する画分を得た。それぞれの画分を減圧下濃縮した後、エタノール-ヘキサンにて再結晶することにより、プロシアニジンBタイプ 2量体:504mg, 3量体:850mg, 4量体:400mg, 5量体:479mg, 6量体:236mgを得た。機器分析データを表2に示す。

【0014】

表2

	2量体	3量体
m.p. (°C)	229~232	217~225
mass [M+H] ⁺	579	868
元素分析値	C ₃₀ H ₅₂ O ₁₂ ・3/2H ₂ O	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₈ ・1/2H ₂ O
理論値	C:H:O=59.50:4.83:35.67	C:H:O=58.70:4.82:36.49
分析値	C:H:O=59.05:4.84:35.90	C:H:O=58.54:5.11:36.90
	4量体	5量体
m.p. (°C)	225~236	196~215
mass [M+H] ⁺	1155	1443
元素分析値	C ₆₀ H ₈₀ O ₂₄ ・2H ₂ O	C ₇₈ H ₉₂ O ₃₀ ・1/3H ₂ O
理論値	C:H:O=61.62:4.45:33.93	C:H:O=62.03:4.37:33.60
分析値	C:H:O=62.00:4.40:33.60	C:H:O=62.00:4.23:33.70
	6量体	
m.p. (°C)	226~235	
mass [M+H] ⁺	1732	
元素分析値	C ₉₀ H ₁₁₂ O ₃₆ ・3H ₂ O	
理論値	C:H:O=60.54:4.52:34.94	
分析値	C:H:O=60.20:4.80:35.10	

【0015】本発明の抗潰瘍剤は、経口的に投与することができ、さらに式1の化合物を適当な医薬担体と混合して用いることもできる。医薬担体としては、シロップ、アラビアゴム、ゼラチン、ソルビット、ポリビニルピロリドン等の結合剤、乳糖、ショ糖、白糖、コーンスターチ、リン酸カルシウム、ソルビット、グリシン等の賦形剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール、シリカ等の滑沢剤、バレイショデンプン等の崩壊剤、ラウリル硫酸ナトリウム等の湿潤剤等である。

【0016】剤形としては、錠剤、丸剤、散剤、カプセル剤、顆粒剤の如き固形剤であってもよく、水剤、懸濁剤・乳剤、シロップ剤、エリキシル剤、リモナーゼ剤の

* 如き液剤であってもよい。これらの投与に適する製剤は、常法により製造される。本発明の抗潰瘍剤の投与量は、治療すべき症状、年齢、体重等により異なるが、例えば通常、成人1日あたり10~5000mgが適当であるが、好ましくは50~2000mg程度である。また、本抗潰瘍剤は例えばブドウ種子より抽出分離して得た場合、そのまま潰瘍予防食品として利用可能である。以下、実施例及び試験例により本発明を更に具体的に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例等に限定されるものではない。

【0017】

【実施例】

実施例1

シロップ剤 (200mgプロシアニジンBタイプ 4量体/5mlシロップ)

プロシアニジンBタイプ4量体	12.5g
滅菌精製水	200ml
チェリーシロップ	1000ml

プロシアニジンBタイプ4量体を水に溶解しそしてこの溶液にシロップを穏やかに攪拌しながら添加する。

【0018】実施例2

シロップ剤 (200mgプロシアニジンBタイプ5量体/5mlシロップ)

プロシアニジンBタイプ5量体	12.5g
滅菌精製水	200ml
チェリーシロップ	1000ml

プロシアニジンBタイプ5量体を水に溶解しそしてこの溶液にシロップを穏やかに攪拌しながら添加する。 * 【0019】実施例3

散剤 (プロシアニジンBタイプ 4量体散剤)

プロシアニジンBタイプ4量体	200g
乳糖	800g
結晶セルロース	200g

プロシアニジンBタイプ4量体と、乳糖、結晶セルロースを混合し、水で練合した後、粉末または細粒状として散剤とする。 * 剤とする。 【0020】実施例4

散剤 (プロシアニジンBタイプ6量体散剤)

プロシアニジンBタイプ6量体	200g
乳糖	800g
結晶セルロース	200g

プロシアニジンBタイプ6量体と、乳糖、結晶セルロースを混合し、水で練合した後、粉末または細粒状として散剤とする。本発明による抗潰瘍剤の効果を以下の試験で確認した。

【0021】＜抗潰瘍試験＞

使用動物：体重170～190gのWistar系雄性ラット（5週齢）

使用薬物：胃潰瘍を惹起する誘導剤として150mM塩酸を含む60%エタノール溶液を用いた。また、プロシアニジンBタイプ少量体は注射用生理食塩水を用いて所定の濃度になるように溶解した。さらに、比較対照薬で現在臨床的に使用されている塩酸セトラキセートは、水に溶解しないことから乳糖と乳糖を用いて微粉末とし生理食塩水★

★に懸濁して使用した。

【0022】実験方法と評価：実験方法は山原らの方法（薬学雑誌、114巻、401頁、1994年）に若干の変更を加えて実施した。すなわち、ラットを24時間絶食後、塩酸/エタノール溶液を1.4ml/匹の割合で経口投与し、1時間後にネンブタール麻酔下放血死せしめて胃を摘出した。摘出した胃内に10%ホルマリンを含みりん酸緩衝液(10mM)を注入し、10分後に切り開き、腺胃部に発生した損傷の長さを測定し損傷係数(lesion index)としmm単位で評価した。サンプルは塩酸/エタノール投与1時間前に経口投与した。比較対照薬は塩酸セトラキセートを用いた。

【0023】実験群：実験群は以下のように設定した。なお、一群あたり6匹のラットを使用した。

- Group 1: コントロール(生理食塩水)
- Group 2: 塩酸セトラキセート100mg/kg
- Group 3: フラバノール単量体((+)カテキン) 200mg/kg
- Group 4: プロシアニジンBタイプ 2量体200mg/kg
- Group 5: プロシアニジンBタイプ 3量体200mg/kg
- Group 6: プロシアニジンBタイプ 4量体200mg/kg
- Group 7: プロシアニジンBタイプ 5量体200mg/kg
- Group 8: プロシアニジンBタイプ 6量体200mg/kg

結果を表3に示す。

【0024】

	潰瘍の大きさ(mm)	抑制率(%)
Group 1	100.0 ± 16.7	
Group 2	19.6 ± 8.9	80.4
Group 3	98.7 ± 10.0	1.3
Group 4	102.0 ± 8.5	0.0
Group 5	88.0 ± 12.5	12.0
Group 6	21.0 ± 23.4**	79.0
Group 7	3.8 ± 2.8**	96.2
Group 8	0.2 ± 1.2**	99.8

** : Group 1と1%の危険率で有意差あり。

【0025】表3から明らかなように、プロシアニジンBタイプの3量体以上の重合体において抗潰瘍活性を示し、特に4量体、5量体、6量体において非常に強く有意に抗潰瘍活性を示した。また、市販医薬品である塩酸セトラキセートと比較しても本発明におけるプロシアニジンBタイプ少量体は非常に強い抗潰瘍活性を示した。また以下により本発明による抗潰瘍剤の毒性試験を行い、毒性の低いことを確認した。

【0026】＜単回投与毒性試験＞

使用動物：体重29～32gのICR/crj雄マウス(5週齢)

実験方法：医薬品毒性試験研究報告ガイドラインに準じ、単回投与毒性試験を行った。

*

【0027】プロシアニジンBタイプの4、5、6量体を生理食塩水にそれぞれ溶解し、5匹のマウスに、体重25gあたり0.2ml(0.125g/ml、1g/kg)の割合で経口投与し、14日間観察した。その結果、これらの物質は、前例死亡動物はなく、14日目の剖検においてもなんら組織、臓器において顕微鏡的異常は観察されず、きわめて毒性は低いことが判明した。

【0028】

【発明の効果】本発明の抗潰瘍剤は、毒性がきわめて低く、副作用を伴うことなく、潰瘍に対して、予防的、治療的效果を示し、潰瘍を顕著に改善することができ、本発明は産業上極めて有用である。

フロントページの続き

(72)発明者 有賀 敏明

千葉県野田市野田339番地 キッコーマン株式会社内

(72)発明者 片岡 茂博

千葉県野田市野田339番地 キッコーマン株式会社内